

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2005 年 9 月 15 日 (15.09.2005)

PCT

(10) 国際公開番号  
**WO 2005/084428 A1**

- (51) 国際特許分類: **A01K 67/027**, C12N 15/09 (74) 代理人: 西澤 利夫 (NISHIZAWA, Toshio); 〒107-0062 東京都港区南青山6丁目1番1号スリーエフ南青山ビルディング7F Tokyo (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2005/003430
- (22) 国際出願日: 2005 年 2 月 23 日 (23.02.2005) (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:  
特願2004-62907 2004 年 3 月 5 日 (05.03.2004) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 独立行政法人科学技術振興機構 (JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY AGENCY) [JP/JP]; 〒332-0012 埼玉県川口市本町4丁目1番8号 Saitama (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 廣瀬 伸一 (HIROSE, Shinichi) [JP/JP]; 〒814-0123 福岡県福岡市城南区长尾四丁目18-30503 Fukuoka (JP). 兼子直 (KANEKO, Sunao) [JP/JP]; 〒036-8036 青森県弘前市鉄砲町2-2 初穂311 Aomori (JP). 岡田 元宏 (OKADA, Motohiro) [JP/JP]; 〒036-8086 青森県弘前市田園四丁目1-6 Aomori (JP). 斉藤 亮 (SAITO, Ryo) [JP/JP]; 〒814-0162 福岡県福岡市早良区星の原団地70-302 Fukuoka (JP).
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:  
— 国際調査報告書
- 2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: EPILEPSY MODEL ANIMAL (CHRNA4:S284L)

(54) 発明の名称: てんかんモデル動物(CHRNA4:S284L)

(57) Abstract: An epilepsy model animal (CHRNA4:S284L) which is a nonhuman animal obtained by the ontogenesis of a totipotent cell having a polynucleotide, which encodes a nonhuman CHRNA4 mutant corresponding to a human CHRNA4 mutant with the substitution of Ser at the 284-position in SEQ ID NO:1 by Leu, transferred thereinto or its offspring carrying the above polynucleotide in its somatic cell chromosome. This model animal has a genetic defect homologous with human chromosomal dominant night epilepsy and exhibits the same symptom (epileptic stroke during sleep) as human autosomal dominant night epilepsy.

(57) 要約: 配列番号1の第284位SerがLeuに置換したヒト変異型CHRNA4に相当する非ヒト変異型CHRNA4をコードするポリヌクレオチドを導入した全能性細胞を個体発生して得られる非ヒト動物またはその子孫動物であって、体細胞染色体中に上記ポリヌクレオチドを保有するてんかんモデル動物(CHRNA4:S284L)。ヒト染色体優性夜間前頭葉てんかんと相同の遺伝子異常を有し、かつヒト常染色体優性夜間前頭葉てんかんと同様の症状(睡眠中のてんかん発作)を有する。

WO 2005/084428 A1

## 明細書

## てんかんモデル動物 (CHRNA4 : S284L)

5

## 技術分野

この出願の発明は、ヒト常染色体優性夜間前頭葉てんかんと相同の遺伝子異常  
10 を有し、睡眠中にてんかん発作を自然発症するてんかんモデル動物に関するものである。

## 背景技術

15

てんかんは、脳細胞の過剰な発射が原因となる反復発作によって特徴づけられる慢性的な脳疾患である。脳細胞の過剰な発射は様々な病因の結果であり、それ故に発作の進行や予後もてんかんの種類によって大きく異なる。従って、てんかんの治療にあたっては、正確な診断と適切な処置が求められている。

20

てんかんの診断法や処理方法の開発、発展のための手段として「てんかんモデル動物」が使用されている。従来、てんかんモデル動物としては、カイニン酸 (kainic acid) の投与による薬物誘導てんかん動物やキンドリング (閾値以下の電気脳刺激を繰り返す方法) 誘導てんかん動物が使用されてきた。

25

しかしながら、これら従来のモデル動物は、強制的にけいれん発作を誘導させた動物に過ぎず、「けいれん発作」のモデル動物とはなり得たが、ヒトてんかんの真のモデル動物とはなり得なかった。

30

一方、近年の分子生物学的研究の進展によって、幾つかのてんかん病型で遺伝

子異常が同定され初めている。この出願の発明者らも、ヒト染色体優性夜間前頭葉てんかんがニューロンニコチン性アセチルコリン受容体  $\alpha 4$  サブユニット (CHRNA4) 遺伝子の変異に関係すること (非特許文献 1)、そして CHRNA4 遺伝子の変異が具体的には第 284 位 Ser が Leu に置換することであることを見出している (非特許文献 2)。

非特許文献 1 : Hirose, S. et al., Neurology 53:1749-1753, 1999.

非特許文献 2 : Matsushima, N. et al., Epilepsy Res. 48:181-186, 2002

10

### 発明の開示

この出願の発明は、前記のとおり従来のもてんかんモデル動物の問題点に鑑みてなされたものであり、ヒト常染色体優性夜間前頭葉てんかんと相同の遺伝子異常 (変異型 CHRNA4 の発現) を有し、ヒト常染色体優性夜間前頭葉てんかんと同一の身体症状 (睡眠中のてんかん発作) を自然発症する新しいてんかんモデル動物を提供することを課題としている。

15

この出願は、前記の課題を解決するための発明として、配列番号 1 の第 284 位 Ser が Leu に置換したヒト変異型 CHRNA4 に相当する非ヒト変異型 CHRNA4 をコードするポリヌクレオチドを導入した全能性細胞を個体発生して得られる非ヒト動物またはその子孫動物であって、体細胞染色体中に上記ポリヌクレオチドを保有し、睡眠中にてんかん発作を自然発症することを特徴とするてんかんモデル動物 (CHRNA4 : S284L) を提供する。

25

またこのてんかんモデル動物 (CHRNA4 : S284L) においては、非ヒト変異型 CHRNA4 をコードするポリヌクレオチドが、脳皮質・海馬特異的に発現する遺伝子のプロモーター領域に相当するポリヌクレオチドとの融合ポリヌクレオチドであることを好ましい態様としている。

30

さらにこの発明のてんかんモデル動物（CHRNA4：S284L）においては、非ヒト動物がラットであり、ラット変異型 CHRNA4 をコードするポリヌクレオチドが、配列番号 2 の第 865 位 c が t、第 866 位 t が c に置換したヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドであることを好ましい態様としている。

5

なお、この発明において「ポリヌクレオチド」とは、プリンまたはピリミジンが糖に  $\beta$ -N-グリコシド結合したヌクレオシドのリン酸エステル（ヌクレオチド ATP、GTP、CTP、UTP；または dATP、dGTP、dCTP、dTTP）が複数個結合した分子を言う。

10

また「ヒト変異型 CHRNA4 に相当する非ヒト変異型 CHRNA4」とは、ヒト CHRNA4（配列番号 2）の第 284 位 Ser に相当する非ヒト CHRNA4 の Ser が Leu に置換していることを意味する。

15

この発明におけるその他の用語や概念は、発明の実施形態の説明や実施例において詳しく規定する。またこの発明を実施するために使用する様々な技術は、特にその出典を明示した技術を除いては、公知の文献等に基づいて当業者であれば容易かつ確実に実施可能である。例えば、遺伝子工学および分子生物学的技術は Sambrook and Maniatis, in Molecular Cloning-A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1989; Ausubel, F. M. et al., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York, N.Y., 1995 等に記載されている。

20

25

### 図面の簡単な説明

図 1 は、この発明のてんかんモデル動物の睡眠中の脳波記録である。上段は 60 秒間の記録であり、中段は棘波群発の記録（15 秒間）、下段は棘波群発が極徐波複合に移行し、次第にその周波数が減少・振幅が増大したことを示す記録（15 秒間）である。

30

### 発明を実施するための最良の形態

- 5       この発明のてんかんモデル動物（CHRNA4：S284L）は、あらゆる種類の非ヒト哺乳動物を対象として作出することができる。例えば、マウス、ラット、ウサギ、ネコ、イヌ、ブタ、ウマ、ウシ等を対象として作出することができるが、実験動物としての汎用性や利便性を考慮してマウス、ラット等の使用が好ましい。
- 10       導入する「非ヒト変異型 CHRNA4 をコードするポリヌクレオチド」としては、対象とする動物種に対応した変異型 CHRNA4 ポリヌクレオチドを使用する。例えば、マウス CHRNA4 のアミノ酸配列（配列番号 5）とこれをコードするポリヌクレオチド（cDNA）配列（配列番号 4）は公知（GenBank/NM-015730）であり、配列番号 5 の第 286 位 Ser がヒト CHRNA4 の第 284 位 Ser に相当する。従って、
- 15       「マウス変異型 CHRNA4 をコードするポリヌクレオチド」は、配列番号 4 における第 960-962 位の Ser コドン（tct）を Leu コドン（ctt、ctc、cta、ctg、tta または ttg）に置換することによって作成することができる。また、ラット CHRNA4 のアミノ酸配列（配列番号 3）とこれをコードするポリヌクレオチド（cDNA）配列（配列番号 2）は公知（GenBank/NM-024354）であり、配列番号 3 の第 286 位 Ser がヒト CHRNA4 の第 284 位 Ser に相当する。従って、「ラット変異型 CHRNA4 をコードするポリヌクレオチド」は、配列番号 2 における第 865-867 位の Ser コドン（tct）を Leu コドン（ctt、ctc、cta、ctg、tta または ttg）に置換することによって作成することができる。ヌクレオチドの置換は、市販の変異導入キットを用いる方法や、変異導入型 PCR 法等の公知の方法で行う
- 20       ことができる。
- 25

この非ヒト変異型 CHRNA4 をコードするポリヌクレオチドはまた、脳皮質・海馬特異的に発現する遺伝子のプロモーター領域に相当するポリヌクレオチドとの融合ポリヌクレオチドとして導入することも好まし。このようなプロモーター領域としては、例えば PDGF- $\beta$  鎖プロモーター等を使用することができる。

30

この発明のてんかんモデル動物（CHRNA4：S284L）は、公知のトランスジェニック動物作成法（例えば、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:7380-7384, 1980）に従って作成することができる。すなわち、前記のポリヌクレオチド（好ましくは融合ポリヌクレオチド）を非ヒト動物の分化全能性細胞に導入し、この細胞を個体へと発生させ、体細胞のゲノム中に導入ポリヌクレオチドが組み込まれた個体を選別することによって目的とするトランスジェニック動物を作製することができる。

ポリヌクレオチドを導入する分化全能性細胞としては、受精卵や初期胚を用いることができる。また培養細胞への遺伝子導入法としては、トランスジェニック動物個体の産出高率や次代への導入遺伝子の伝達効率を考慮した場合、DNA の物理的注入（マイクロインジェクション）法が最適である。遺伝子を注入した受精卵は、次に仮親の卵管に移植され、個体まで発生し出生した動物を里親につけて飼育させたのち、体の一部（尾部先端等）から DNA を抽出し、サザン解析や PCR 法により導入したポリヌクレオチドの存在を確認する。導入ポリヌクレオチドの存在が確認された個体（ヘテロ接合体）を初代（Founder：F0）とすれば、導入遺伝子はその子（F1）の 50%に伝達される。さらに、この F1 個体の雌雄を交配させることにより、2 倍体染色体の両方に導入遺伝子を有する個体（F2）を作出することができる。

なお、外来遺伝子を動物個体の染色体 DNA に導入する方法としては、公知の標的遺伝子組換え法（ジーンターゲティング法：Science 244:1288-1292, 1989）を用いたノックイン（Knock In）法が知られている。このノックイン法では、動物個体の染色体 DNA に存在する内在性遺伝子が外来性遺伝子に完全に置換される。従って、このノックイン法で作出された遺伝子導入動物は、内在性タンパク質は産生せず、この内在性タンパク質に相同な外来性（変異型）タンパク質のみを産生する。一方、この発明のてんかんモデル動物の作出に用いたトランスジェニック方法は、内在性遺伝子（CHRNA4 遺伝子）は正常のままの状態、新たにその染色体 DNA の任意の位置に変異型 CHRNA4 をコードするポリヌクレオチドを導入

入する。このため、この発明のてんかんモデル動物では、正常な CHRNA4 と変異型 CHRNA4 が共に産生されている。ニューロンニコチン性アセチルコリン受容体はイオンチャンネル ( $\alpha$  サブユニット 2 個、 $\beta$  サブユニット 3 個) として機能するタンパク質であるが、このようなイオンチャンネルはいずれかのサブユニットが変異していればチャンネル機能が変更する。従って、正常サブユニットと変異サブユニットが同時に発現してもよく、この出願の発明者らは、ノックイン法のように変異サブユニットを発現させるよりも、正常サブユニットと変異サブユニットを同時に発現させることがヒト型てんかん発作を呈するモデル動物として適切であるとのコンセプトに基づき、この出願の発明を完成させた。

この発明のてんかんモデル動物 (CHRNA4 : S284L) は、後記の実施例に示すように、ヒト染色体優性夜間前頭葉てんかんと同様に、睡眠中にてんかん発作を自然発症するという優れた特性を有している。

## 実施例

以下、実施例を示してこの出願の発明についてさらに詳細かつ具体的に説明するが、この出願の発明は以下の例によって限定されるものではない。

### (1) 方法

#### (1-1) トランスジェニックラットの作成

ラット Chrna4 および Chrn2 の cDNA は、ラット胎児 cDNA パネル (Clontech, Palo Alto, CA) から PCR 増幅し、pCRTOP0II ベクター (Invitrogen, Carlsbad, CA) にサブクローニングした。ヒト夜間前頭葉てんかんと相同のミスセンス変位を生じさせるヌクレオチド置換 (配列番号 2 の第 865 位 C→T、第 866 位 T→C; S286L) を QuickChange Site-Directed Mutagenesis Kit (Stratagene, La Jolla, CA) を用いて Chrna4 cDNA に導入した。野生型 Chrna4 と Chrn2 の cDNA、および変異型 Chrna4 cDNA を

pSP64 Poly(A)ベクター (Promega, Madison, WI) に導入して対応する cRNAs を作成し、アフリカツメガエル卵母細胞を用いた *in vitro* 電気生理学的研究に使用した。変異型 *Chrna4* cDNA は、pCI-neo ベクター (Promega) のヒト PDGF- $\beta$  鎖プロモーターを保有する発現ベクターに挿入した。各クローニングステップ  
5 毎に、一連のシーケンシングプライマーを用いた複数回のシーケンシングによってクローンの完全性を確認した。変異型 *Chrna4* cDNA を保有するベクターを *Sna* BI and *Nae* I で開裂し、変異型 cDNA と PDGF- $\beta$  プロモーターを含む直鎖状断片を精製した。この断片を、Japan SLC, Inc 社 (浜松市) においてラット卵母細胞 (SD) に注入し、トランスジェニックラットを作出した。

10

#### (1-2) トランスジェニックラットの遺伝子型の確認

トランスジェニックラットの尾部切断組織を、緩衝液 [50 mM Tris (pH 8), 10 mM EDTA, 100 mM sodium chloride, 1% (w/v) SDS, and 50 mg/ml proteinase K (Sigma)] 中で 55°C で一晩消化した。RNase A 処理 (100  $\mu$ g/ml、  
15 37°C で 1 時間) の後、酢酸アンモニウムを終濃度 2 M となるように加え、冷却し、遠心してタンパク質を沈殿させた。上清中の DNA を 0.6 vol の冷イソプロパノールで沈殿させ 70%エタノールで洗浄した。DNA ペレットを 4°C で一晩水に溶解した。DNA 量は 260 nm の吸光度で評価し、その DNA の一部 (50ng) を PCR 増幅した。PCR 産物は、自動配列決定装置 (ABI 3100 : Perkin Elmer  
20 Biosystems, Foster City, CA) によってシーケンシングした。

その結果、作出されたトランスジェニックラットは、導入した変異型 *Chrna4* cDNA を体細胞染色体に保有することが確認された。

#### (1-3) トランスジェニックラットの脳波 (EEG) 測定

8-10 週齢のトランスジェニックラットに対して脳波(EEG)を測定した。ハロタン (halothane) 麻酔 (ハロタンと O<sub>2</sub> の 1.5%混合物と N<sub>2</sub>O) の後、ラットを脳固定装置に固定し、脳波測定用のテフロン (登録商標) 被覆ステンレス電極を左右大脳半球の前頭葉 (ブレグマより A = 3.2 mm、L = 0.8 mm) に装着し、歯  
科用セメントで固定した。不関電極は、小脳部位の上部に埋め込んだ。脳波は、  
30 0.1  $\pm$  3 kHz 帯域に設定したテレメーター (Unimec Co., Tokyo, Japan) を用



いて、電極装着の 7 日後から自由運動条件下で測定した。脳波分析は、Chart for windows (Adinstruments, Sydney, Australia) も用いて行った。

結果は図 1 に示したとおりである。軽睡眠期特有の紡錘波の後に、てんかん発作に特徴的な棘波群発（図 1 中段）が十数秒持続した後に、極徐波複合に移行し、  
5 次第にその周波数が減少・振幅が増大（図 1 下段）し、てんかん発作は部分発作から二次性全般化発作に移行した。

以上のとおり、作出されたトランスジェニックラットは、変異型 CHRNA4 を発現し、睡眠中にてんかん発作を生じさせた。この変異型 CHRNA4 の発現という遺  
10 伝子型と、睡眠中のてんかん発作という身体症状から、このトランスジェニックラットがヒト染色体優性夜間前頭葉てんかんのモデル動物として適格であることが確認された。

15

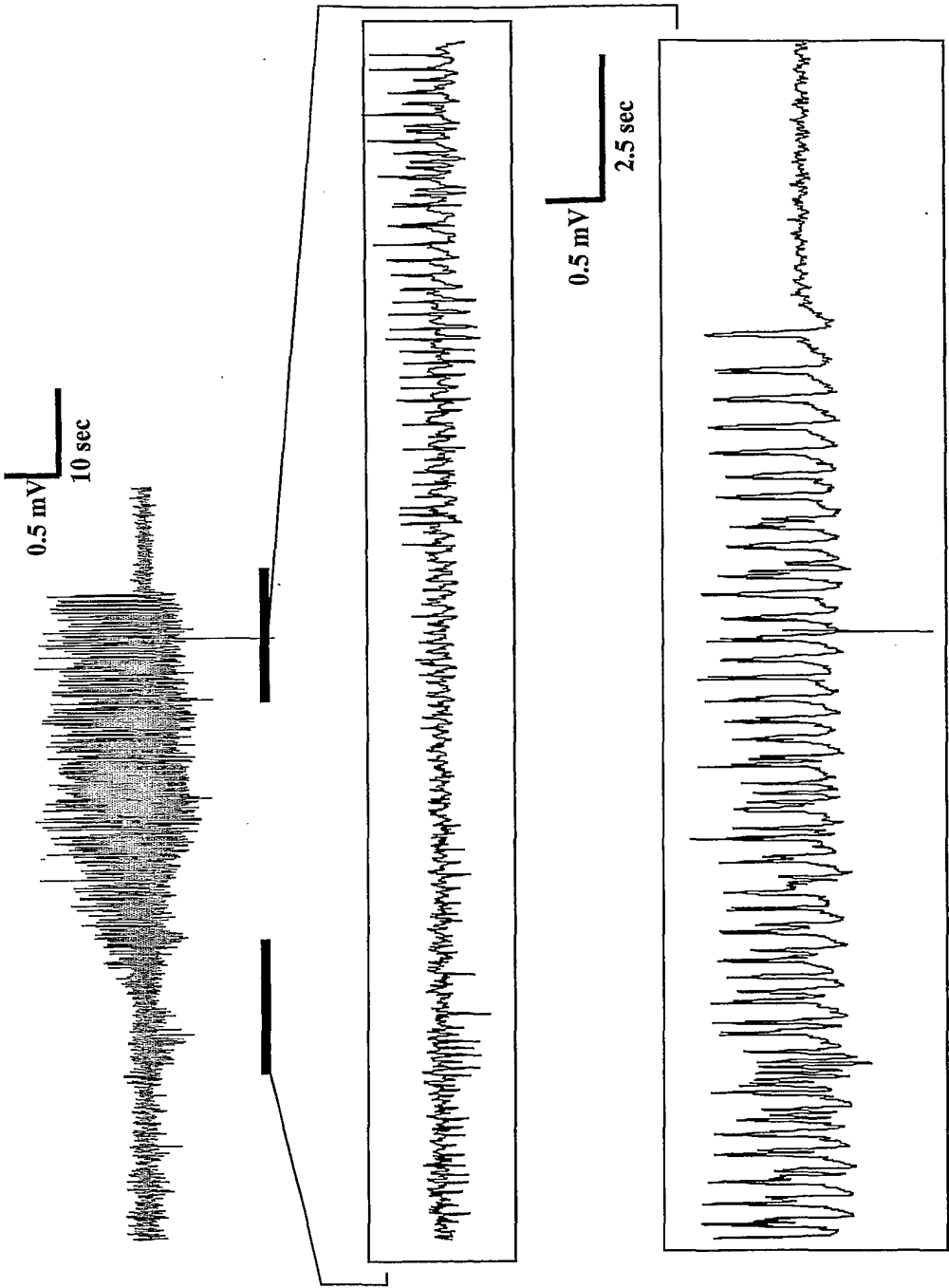
#### 産業上の利用可能性

以上詳しく説明したとおり、この出願の発明によって、ヒト染色体優性夜間前頭葉てんかんと相同の遺伝子異常を有し、かつヒト染色体優性夜間前頭葉てんか  
んと同様の症状（睡眠中のてんかん発作）を有する動物が提供される。このてん  
20 かんモデル動物は、ヒト染色体優性夜間前頭葉てんかんの診断法の開発や、その治療法の開発等に極めて有用である。

## 請求の範囲

1. 配列番号 1 の第 284 位 Ser が Leu に置換したヒト変異型 CHRNA4 に相当する非ヒト変異型 CHRNA4 をコードするポリヌクレオチドを導入した全能性細胞を個体発生して得られる非ヒト動物またはその子孫動物であって、体細胞染色体中に上記ポリヌクレオチドを保有し、睡眠中にてんかん発作を自然発症することを特徴とするてんかんモデル動物（CHRNA4：S284L）。
2. 非ヒト変異型 CHRNA4 をコードするポリヌクレオチドが、脳皮質・海馬特異的に発現する遺伝子のプロモーター領域に相当するポリヌクレオチドとの融合ポリヌクレオチドである請求項 1 のてんかんモデル動物（CHRNA4：S284L）。
3. 非ヒト動物がラットであり、ラット変異型 CHRNA4 をコードするポリヌクレオチドが、配列番号 2 の第 865 位 c が t、第 866 位 t が c に置換したヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドである請求項 1 または 2 のてんかんモデル動物（CHRNA4：S284L）。

図 1



1/22

## SEQUENCE LISTING

&lt;110&gt; Japan Science and Technology Agency

&lt;120&gt; Epilepsy-model animal

&lt;130&gt; 05F004PCT

&lt;150&gt; JP2004-62907

&lt;151&gt; 2004-03-05

&lt;160&gt; 5

&lt;170&gt; PatentIn version 3.1

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 627

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 1

Met Glu Leu Gly Gly Pro Gly Ala Pro Arg Leu Leu Pro Pro Leu Leu  
1 5 10 15

Leu Leu Leu Gly Thr Gly Leu Leu Arg Ala Ser Ser His Val Glu Thr  
20 25 30

Arg Ala His Ala Glu Glu Arg Leu Leu Lys Lys Leu Phe Ser Gly Tyr  
35 40 45

Asn Lys Trp Ser Arg Pro Val Ala Asn Ile Ser Asp Val Val Leu Val  
50 55 60

Arg Phe Gly Leu Ser Ile Ala Gln Leu Ile Asp Val Asp Glu Lys Asn  
65 70 75 80

Gln Met Met Thr Thr Asn Val Trp Val Lys Gln Glu Trp His Asp Tyr  
85 90 95

2/22

Lys Leu Arg Trp Asp Pro Ala Asp Tyr Glu Asn Val Thr Ser Ile Arg  
100 105 110

Ile Pro Ser Glu Leu Ile Trp Arg Pro Asp Ile Val Leu Tyr Asn Asn  
115 120 125

Ala Asp Gly Asp Phe Ala Val Thr His Leu Thr Lys Ala His Leu Phe  
130 135 140

His Asp Gly Arg Val Gln Trp Thr Pro Pro Ala Ile Tyr Lys Ser Ser  
145 150 155 160

Cys Ser Ile Asp Val Thr Phe Phe Pro Phe Asp Gln Gln Asn Cys Thr  
165 170 175

Met Lys Phe Gly Ser Trp Thr Tyr Asp Lys Ala Lys Ile Asp Leu Val  
180 185 190

Asn Met His Ser Arg Val Asp Gln Leu Asp Phe Trp Glu Ser Gly Glu  
195 200 205

Trp Val Ile Val Asp Ala Val Gly Thr Tyr Asn Thr Arg Lys Tyr Glu  
210 215 220

Cys Cys Ala Glu Ile Tyr Pro Asp Ile Thr Tyr Ala Phe Val Ile Arg  
225 230 235 240

Arg Leu Pro Leu Phe Tyr Thr Ile Asn Leu Ile Ile Pro Cys Leu Leu  
245 250 255

Ile Ser Cys Leu Thr Val Leu Val Phe Tyr Leu Pro Ser Glu Cys Gly  
260 265 270

3/22

Glu Lys Ile Thr Leu Cys Ile Ser Val Leu Leu Ser Leu Thr Val Phe  
275 280 285

Leu Leu Leu Ile Thr Glu Ile Ile Pro Ser Thr Ser Leu Val Ile Pro  
290 295 300

Leu Ile Gly Glu Tyr Leu Leu Phe Thr Met Ile Phe Val Thr Leu Ser  
305 310 315 320

Ile Val Ile Thr Val Phe Val Leu Asn Val His His Arg Ser Pro Arg  
325 330 335

Thr His Thr Met Pro Thr Trp Val Arg Arg Val Phe Leu Asp Ile Val  
340 345 350

Pro Arg Leu Leu Leu Met Lys Arg Pro Ser Val Val Lys Asp Asn Cys  
355 360 365

Arg Arg Leu Ile Glu Ser Met His Lys Met Ala Ser Ala Pro Arg Phe  
370 375 380

Trp Pro Glu Pro Glu Gly Glu Pro Pro Ala Thr Ser Gly Thr Gln Ser  
385 390 395 400

Leu His Pro Pro Ser Pro Ser Phe Cys Val Pro Leu Asp Val Pro Ala  
405 410 415

Glu Pro Gly Pro Ser Cys Lys Ser Pro Ser Asp Gln Leu Pro Pro Gln  
420 425 430

Gln Pro Leu Glu Ala Glu Lys Ala Ser Pro His Pro Ser Pro Gly Pro  
435 440 445

Cys Arg Pro Pro His Gly Thr Gln Ala Pro Gly Leu Ala Lys Ala Arg

4/22

450                      455                      460

Ser Leu Ser Val Gln His Met Ser Ser Pro Gly Glu Ala Val Glu Gly  
465                      470                      475                      480

Gly Val Arg Cys Arg Ser Arg Ser Ile Gln Tyr Cys Val Pro Arg Asp  
                    485                      490                      495

Asp Ala Ala Pro Glu Ala Asp Gly Gln Ala Ala Gly Ala Leu Ala Ser  
                    500                      505                      510

Arg Asn Thr His Ser Ala Glu Leu Pro Pro Pro Asp Gln Pro Ser Pro  
                    515                      520                      525

Cys Lys Cys Thr Cys Lys Lys Glu Pro Ser Ser Val Ser Pro Ser Ala  
                    530                      535                      540

Thr Val Lys Thr Arg Ser Thr Lys Ala Pro Pro Pro His Leu Pro Leu  
545                      550                      555                      560

Ser Pro Ala Leu Thr Arg Ala Val Glu Gly Val Gln Tyr Ile Ala Asp  
                    565                      570                      575

His Leu Lys Ala Glu Asp Thr Asp Phe Ser Val Lys Glu Asp Trp Lys  
                    580                      585                      590

Tyr Val Ala Met Val Ile Asp Arg Ile Phe Leu Trp Met Phe Ile Ile  
                    595                      600                      605

Val Cys Leu Leu Gly Thr Val Gly Leu Phe Leu Pro Pro Trp Leu Ala  
                    610                      615                      620

Gly Met Ile  
625

5/22

<210> 2  
 <211> 2149  
 <212> DNA  
 <213> Rattus norvegicus

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (10).. (1902)  
 <223>

<300>  
 <308> GenBank/NM\_024354  
 <309> 2003-12-21

<400> 2  
 agcttcacc atg gcc aat tcg ggc ccc ggg gcg ccg ccg ctg ctg cta 51  
 Met Ala Asn Ser Gly Pro Gly Ala Pro Pro Pro Leu Leu Leu  
 1 5 10

ctg ccg ctg ctg ctg ctc cta ggg acc ggc ctc ttg cct gct agc agc 99  
 Leu Pro Leu Leu Leu Leu Gly Thr Gly Leu Leu Pro Ala Ser Ser  
 15 20 25 30

cac ata gag acc cgg gcc cat gcg gag gag cgg ctc ctg aag aga ctc 147  
 His Ile Glu Thr Arg Ala His Ala Glu Glu Arg Leu Leu Lys Arg Leu  
 35 40 45

ttc tcc ggt tac aac aag tgg tct cgg cca gta ggc aat atc tca gat 195  
 Phe Ser Gly Tyr Asn Lys Trp Ser Arg Pro Val Gly Asn Ile Ser Asp  
 50 55 60

gtg gtc ctc gtc cgc ttt ggc ttg tcc att gct cag ctc att gac gtg 243  
 Val Val Leu Val Arg Phe Gly Leu Ser Ile Ala Gln Leu Ile Asp Val  
 65 70 75

gac gag aag aac cag atg atg aca acc aac gtg tgg gtg aag cag gag 291  
 Asp Glu Lys Asn Gln Met Met Thr Thr Asn Val Trp Val Lys Gln Glu  
 80 85 90

tgg cac gac tac aag ctg cgc tgg gac cct ggt gac tac gag aat gtc 339  
 Trp His Asp Tyr Lys Leu Arg Trp Asp Pro Gly Asp Tyr Glu Asn Val  
 95 100 105 110



6/22

|   |     |
|---|-----|
| acc tcc atc cgc atc ccc tct gaa ctc atc tgg agg cct gac atc gtc<br>Thr Ser Ile Arg Ile Pro Ser Glu Leu Ile Trp Arg Pro Asp Ile Val<br>115 120 125     | 387 |
| ctc tac aac aat gcg gat gga gac ttt gca gtc acc cac ctg acc aag<br>Leu Tyr Asn Asn Ala Asp Gly Asp Phe Ala Val Thr His Leu Thr Lys<br>130 135 140     | 435 |
| gcc cac ctg ttc tat gac gga agg gtg cag tgg aca ccc cca gcc atc<br>Ala His Leu Phe Tyr Asp Gly Arg Val Gln Trp Thr Pro Pro Ala Ile<br>145 150 155     | 483 |
| tat aag agc tcc tgc agc atc gac gtc acc ttc ttc ccc ttt gac cag<br>Tyr Lys Ser Ser Cys Ser Ile Asp Val Thr Phe Phe Pro Phe Asp Gln<br>160 165 170     | 531 |
| cag aac tgt acc atg aag ttt gga tcc tgg acc tac gac aag gcc aag<br>Gln Asn Cys Thr Met Lys Phe Gly Ser Trp Thr Tyr Asp Lys Ala Lys<br>175 180 185 190 | 579 |
| att gac tta gtg agc att cat agc cgt gtg gac caa ctg gac ttc tgg<br>Ile Asp Leu Val Ser Ile His Ser Arg Val Asp Gln Leu Asp Phe Trp<br>195 200 205     | 627 |
| gaa agt ggg gag tgg gtc atc gtg gat gct gtg ggc acc tac aac acc<br>Glu Ser Gly Glu Trp Val Ile Val Asp Ala Val Gly Thr Tyr Asn Thr<br>210 215 220     | 675 |
| agg aag tac gag tgc tgt gcc gag atc tat cct gac atc acc tat gcc<br>Arg Lys Tyr Glu Cys Cys Ala Glu Ile Tyr Pro Asp Ile Thr Tyr Ala<br>225 230 235     | 723 |
| ttc atc atc cga cgc ctg ccg cta ttc tac acc atc aac ctc atc atc<br>Phe Ile Ile Arg Arg Leu Pro Leu Phe Tyr Thr Ile Asn Leu Ile Ile<br>240 245 250     | 771 |
| ccg tgc ctg ctc atc tcc tgt ctc acc gtg ctg gtc ttc tat ctg cct<br>Pro Cys Leu Leu Ile Ser Cys Leu Thr Val Leu Val Phe Tyr Leu Pro<br>255 260 265 270 | 819 |
| tca gag tgt ggc gag aag gtc aca ctg tgc atc tcg gtg ctg ctt tct<br>Ser Glu Cys Gly Glu Lys Val Thr Leu Cys Ile Ser Val Leu Leu Ser<br>275 280 285     | 867 |
| ctc acc gtc ttc ctg ctg ctc atc acc gag atc atc ccg tcc acc tcg   | 915 |

7/22

|   |      |
|---|------|
| Leu Thr Val Phe Leu Leu Leu Ile Thr Glu Ile Ile Pro Ser Thr Ser |      |
| 290 295 300   |      |
| ctg gtc atc ccg ctc atc ggc gag tac ctc ctc ttc acc atg atc ttc | 963  |
| Leu Val Ile Pro Leu Ile Gly Glu Tyr Leu Leu Phe Thr Met Ile Phe |      |
| 305 310 315   |      |
| gtc acc ctc tcc atc gtc atc acg gtc ttc gtg ctc aat gtg cac cac | 1011 |
| Val Thr Leu Ser Ile Val Ile Thr Val Phe Val Leu Asn Val His His |      |
| 320 325 330   |      |
| cgc tcg cca cgc aca cac acg atg ccc gcc tgg gtg cgt aga gtc ttc | 1059 |
| Arg Ser Pro Arg Thr His Thr Met Pro Ala Trp Val Arg Arg Val Phe |      |
| 335 340 345 350   |      |
| ctg gac atc gtg cct cgc ctc ctc ttc atg aag cgc ccc tct gtg gtc | 1107 |
| Leu Asp Ile Val Pro Arg Leu Leu Phe Met Lys Arg Pro Ser Val Val |      |
| 355 360 365   |      |
| aaa gac aac tgc cgg aga ctt att gag tcc atg cac aag atg gcc aac | 1155 |
| Lys Asp Asn Cys Arg Arg Leu Ile Glu Ser Met His Lys Met Ala Asn |      |
| 370 375 380   |      |
| gcc ccc cgc ttc tgg cca gag cct gtg ggc gag ccc ggc atc ttg agt | 1203 |
| Ala Pro Arg Phe Trp Pro Glu Pro Val Gly Glu Pro Gly Ile Leu Ser |      |
| 385 390 395   |      |
| gac atc tgc aac caa ggt ctg tca cct gcc cca act ttc tgc aac ccc | 1251 |
| Asp Ile Cys Asn Gln Gly Leu Ser Pro Ala Pro Thr Phe Cys Asn Pro |      |
| 400 405 410   |      |
| acg gac aca gca gtc gag acc cag cct acg tgc agg tca ccc ccc ctt | 1299 |
| Thr Asp Thr Ala Val Glu Thr Gln Pro Thr Cys Arg Ser Pro Pro Leu |      |
| 415 420 425 430   |      |
| gag gtc cct gac ttg aag aca tca gag gtt gag aag gcc agt ccc tgt | 1347 |
| Glu Val Pro Asp Leu Lys Thr Ser Glu Val Glu Lys Ala Ser Pro Cys |      |
| 435 440 445   |      |
| cca tcg cct ggc tcc tgt cct cca ccc aag agc agc agt ggg gct cca | 1395 |
| Pro Ser Pro Gly Ser Cys Pro Pro Pro Lys Ser Ser Ser Gly Ala Pro |      |
| 450 455 460   |      |
| atg ctc atc aaa gcc agg tcc ctg agt gtc cag cat gtg ccc agc tcc | 1443 |
| Met Leu Ile Lys Ala Arg Ser Leu Ser Val Gln His Val Pro Ser Ser |      |

8/22

| 465   | 470 | 475 |      |
|---|-----|-----|------|
| caa gaa gca gca gaa gat ggc atc cgc tgc cgg tct cgg agt atc cag   |     |     | 1491 |
| Gln Glu Ala Ala Glu Asp Gly Ile Arg Cys Arg Ser Arg Ser Ile Gln   |     |     |      |
| 480   | 485 | 490 |      |
| tac tgt gtt tcc caa gat gga gct gcc tcc ctg gct gac agc aag ccc   |     |     | 1539 |
| Tyr Cys Val Ser Gln Asp Gly Ala Ala Ser Leu Ala Asp Ser Lys Pro   |     |     |      |
| 495   | 500 | 505 | 510  |
| acc agc tcc ccg acc tcc ctg aag gcc cgt cca tcc cag ctt ccc gtg   |     |     | 1587 |
| Thr Ser Ser Pro Thr Ser Leu Lys Ala Arg Pro Ser Gln Leu Pro Val   |     |     |      |
| 515   | 520 | 525 |      |
| tca gac cag gcc tct cca tgc aaa tgc aca tgc aag gaa cca tct cct   |     |     | 1635 |
| Ser Asp Gln Ala Ser Pro Cys Lys Cys Thr Cys Lys Glu Pro Ser Pro   |     |     |      |
| 530   | 535 | 540 |      |
| gtg tcc cca gtc act gtg ctc aag gcg gga ggc acc aaa gca cct ccc   |     |     | 1683 |
| Val Ser Pro Val Thr Val Leu Lys Ala Gly Gly Thr Lys Ala Pro Pro   |     |     |      |
| 545   | 550 | 555 |      |
| caa cac ctg ccc ctg tca cca gcc ctg aca cgg gca gta gaa ggc gtc   |     |     | 1731 |
| Gln His Leu Pro Leu Ser Pro Ala Leu Thr Arg Ala Val Glu Gly Val   |     |     |      |
| 560   | 565 | 570 |      |
| cag tac att gca gac cac ctc aag gca gaa gac act gac ttc tcg gtg   |     |     | 1779 |
| Gln Tyr Ile Ala Asp His Leu Lys Ala Glu Asp Thr Asp Phe Ser Val   |     |     |      |
| 575   | 580 | 585 | 590  |
| aag gag gac tgg aaa tac gtg gcc atg gtc att gac cga atc ttc ctc   |     |     | 1827 |
| Lys Glu Asp Trp Lys Tyr Val Ala Met Val Ile Asp Arg Ile Phe Leu   |     |     |      |
| 595   | 600 | 605 |      |
| tgg atg ttc atc att gtc tgc ctt ctg ggc act gtg gga ctc ttc ctg   |     |     | 1875 |
| Trp Met Phe Ile Ile Val Cys Leu Leu Gly Thr Val Gly Leu Phe Leu   |     |     |      |
| 610   | 615 | 620 |      |
| cct ccc tgg ctg gct ggt atg atc tag ggacgtggtg gtgccagct          |     |     | 1922 |
| Pro Pro Trp Leu Ala Gly Met Ile                                   |     |     |      |
| 625   | 630 |     |      |
| cccacatctc tgtagggcca tacgactcgt cagtcaccca catcttccaa accggctgac |     |     | 1982 |
| catgagacac cctaggagag agatgatgct tcttgggaga tggaagtgg ccctggttct  |     |     | 2042 |

9/22

agtcagacta tgggcgtggt tggagagaaa tgagggtga tacagttgca ggccgagtc 2102

ccattaaagt ttctccagag caagtggcag tactccctga cttacag 2149

<210> 3

<211> 630

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 3

Met Ala Asn Ser Gly Pro Gly Ala Pro Pro Pro Leu Leu Leu Leu Pro  
1 5 10 15

Leu Leu Leu Leu Leu Gly Thr Gly Leu Leu Pro Ala Ser Ser His Ile  
20 25 30

Glu Thr Arg Ala His Ala Glu Glu Arg Leu Leu Lys Arg Leu Phe Ser  
35 40 45

Gly Tyr Asn Lys Trp Ser Arg Pro Val Gly Asn Ile Ser Asp Val Val  
50 55 60

Leu Val Arg Phe Gly Leu Ser Ile Ala Gln Leu Ile Asp Val Asp Glu  
65 70 75 80

Lys Asn Gln Met Met Thr Thr Asn Val Trp Val Lys Gln Glu Trp His  
85 90 95

Asp Tyr Lys Leu Arg Trp Asp Pro Gly Asp Tyr Glu Asn Val Thr Ser  
100 105 110

Ile Arg Ile Pro Ser Glu Leu Ile Trp Arg Pro Asp Ile Val Leu Tyr  
115 120 125

10/22

Asn Asn Ala Asp Gly Asp Phe Ala Val Thr His Leu Thr Lys Ala His  
130 135 140

Leu Phe Tyr Asp Gly Arg Val Gln Trp Thr Pro Pro Ala Ile Tyr Lys  
145 150 155 160

Ser Ser Cys Ser Ile Asp Val Thr Phe Phe Pro Phe Asp Gln Gln Asn  
165 170 175

Cys Thr Met Lys Phe Gly Ser Trp Thr Tyr Asp Lys Ala Lys Ile Asp  
180 185 190

Leu Val Ser Ile His Ser Arg Val Asp Gln Leu Asp Phe Trp Glu Ser  
195 200 205

Gly Glu Trp Val Ile Val Asp Ala Val Gly Thr Tyr Asn Thr Arg Lys  
210 215 220

Tyr Glu Cys Cys Ala Glu Ile Tyr Pro Asp Ile Thr Tyr Ala Phe Ile  
225 230 235 240

Ile Arg Arg Leu Pro Leu Phe Tyr Thr Ile Asn Leu Ile Ile Pro Cys  
245 250 255

Leu Leu Ile Ser Cys Leu Thr Val Leu Val Phe Tyr Leu Pro Ser Glu  
260 265 270

Cys Gly Glu Lys Val Thr Leu Cys Ile Ser Val Leu Leu Ser Leu Thr  
275 280 285

Val Phe Leu Leu Leu Ile Thr Glu Ile Ile Pro Ser Thr Ser Leu Val  
290 295 300

Ile Pro Leu Ile Gly Glu Tyr Leu Leu Phe Thr Met Ile Phe Val Thr

11/22

305                      310                      315                      320

Leu Ser Ile Val Ile Thr Val Phe Val Leu Asn Val His His Arg Ser  
                                 325                      330                      335

Pro Arg Thr His Thr Met Pro Ala Trp Val Arg Arg Val Phe Leu Asp  
                                 340                      345                      350

Ile Val Pro Arg Leu Leu Phe Met Lys Arg Pro Ser Val Val Lys Asp  
                                 355                      360                      365

Asn Cys Arg Arg Leu Ile Glu Ser Met His Lys Met Ala Asn Ala Pro  
                                 370                      375                      380

Arg Phe Trp Pro Glu Pro Val Gly Glu Pro Gly Ile Leu Ser Asp Ile  
385                                   390                                   395                                   400

Cys Asn Gln Gly Leu Ser Pro Ala Pro Thr Phe Cys Asn Pro Thr Asp  
                                 405                                   410                                   415

Thr Ala Val Glu Thr Gln Pro Thr Cys Arg Ser Pro Pro Leu Glu Val  
                                 420                                   425                                   430

Pro Asp Leu Lys Thr Ser Glu Val Glu Lys Ala Ser Pro Cys Pro Ser  
                                 435                                   440                                   445

Pro Gly Ser Cys Pro Pro Pro Lys Ser Ser Ser Gly Ala Pro Met Leu  
                                 450                                   455                                   460

Ile Lys Ala Arg Ser Leu Ser Val Gln His Val Pro Ser Ser Gln Glu  
465                                   470                                   475                                   480

Ala Ala Glu Asp Gly Ile Arg Cys Arg Ser Arg Ser Ile Gln Tyr Cys  
                                 485                                   490                                   495

12/22

Val Ser Gln Asp Gly Ala Ala Ser Leu Ala Asp Ser Lys Pro Thr Ser  
500 505 510

Ser Pro Thr Ser Leu Lys Ala Arg Pro Ser Gln Leu Pro Val Ser Asp  
515 520 525

Gln Ala Ser Pro Cys Lys Cys Thr Cys Lys Glu Pro Ser Pro Val Ser  
530 535 540

Pro Val Thr Val Leu Lys Ala Gly Gly Thr Lys Ala Pro Pro Gln His  
545 550 555 560

Leu Pro Leu Ser Pro Ala Leu Thr Arg Ala Val Glu Gly Val Gln Tyr  
565 570 575

Ile Ala Asp His Leu Lys Ala Glu Asp Thr Asp Phe Ser Val Lys Glu  
580 585 590

Asp Trp Lys Tyr Val Ala Met Val Ile Asp Arg Ile Phe Leu Trp Met  
595 600 605

Phe Ile Ile Val Cys Leu Leu Gly Thr Val Gly Leu Phe Leu Pro Pro  
610 615 620

Trp Leu Ala Gly Met Ile  
625 630

&lt;210&gt; 4

&lt;211&gt; 4508

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;220&gt;

13/22

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (105).. (1994)

&lt;223&gt;

&lt;300&gt;

&lt;308&gt; GenBank/NM\_015730

&lt;309&gt; 2003-12-23

&lt;400&gt; 4

|   |     |
|---|-----|
| cgagcggccg cgacacgggg catgaagttg ggtgcgcgcg ggtctcggag cggaggcgcg | 60  |
| gtactgccgg gagccgccct cgtctagagc ccgttctgtg agcc atg gag atc ggg  | 116 |
| Met Glu Ile Gly   |     |
| 1   |     |
| ggc tcc ggg gcg ccg ccg ccg ctg ctg ctc ctg ccg ctc ctg ctg ctc   | 164 |
| Gly Ser Gly Ala Pro Pro Pro Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu Leu Leu   |     |
| 5 10 15 20  |     |
| tta ggg acc ggc ctc ttg cct gct agc agc cac ata gag acc cgg gcc   | 212 |
| Leu Gly Thr Gly Leu Leu Pro Ala Ser Ser His Ile Glu Thr Arg Ala   |     |
| 25 30 35  |     |
| cat gcg gag gag cgg ctc ctg aag aga ctc ttc tct ggc tac aac aag   | 260 |
| His Ala Glu Glu Arg Leu Leu Lys Arg Leu Phe Ser Gly Tyr Asn Lys   |     |
| 40 45 50  |     |
| tgg tct cgg cca gta gcc aat atc tca gat gtg gtc ctt gtc cgc ttt   | 308 |
| Trp Ser Arg Pro Val Ala Asn Ile Ser Asp Val Val Leu Val Arg Phe   |     |
| 55 60 65  |     |
| ggc ttg tcg att gct cag ctc att gat gtg gat gag aaa aac cag atg   | 356 |
| Gly Leu Ser Ile Ala Gln Leu Ile Asp Val Asp Glu Lys Asn Gln Met   |     |
| 70 75 80  |     |
| atg acg acc aac gtg tgg gtg aag cag gag tgg cat gac tac aaa ctg   | 404 |
| Met Thr Thr Asn Val Trp Val Lys Gln Glu Trp His Asp Tyr Lys Leu   |     |
| 85 90 95 100  |     |
| cgc tgg gac cct ggt gac tac gag aat gtc acc tcc atc cgc atc cca   | 452 |
| Arg Trp Asp Pro Gly Asp Tyr Glu Asn Val Thr Ser Ile Arg Ile Pro   |     |
| 105 110 115   |     |
| tct gaa ctc atc tgg agg cct gac atc gtc ctc tac aac aac gcg gac   | 500 |
| Ser Glu Leu Ile Trp Arg Pro Asp Ile Val Leu Tyr Asn Asn Ala Asp   |     |



14/22

| 120   | 125 | 130 |      |
|---|-----|-----|------|
| ggg gac ttt gca gtc acc cac cta acc aaa gcc cac ctg ttc tat gat |     |     | 548  |
| Gly Asp Phe Ala Val Thr His Leu Thr Lys Ala His Leu Phe Tyr Asp |     |     |      |
| 135   | 140 | 145 |      |
| ggg cgt gtg cag tgg aca ccc ccg gcc atc tat aag agc tcc tgc agc |     |     | 596  |
| Gly Arg Val Gln Trp Thr Pro Pro Ala Ile Tyr Lys Ser Ser Cys Ser |     |     |      |
| 150   | 155 | 160 |      |
| atc gac gtc acc ttc ttc ccc ttc gac cag cag aac tgt acc atg aag |     |     | 644  |
| Ile Asp Val Thr Phe Phe Pro Phe Asp Gln Gln Asn Cys Thr Met Lys |     |     |      |
| 165   | 170 | 175 | 180  |
| ttt ggg tcc tgg acc tac gac aag gcc aag att gac ttg gtg agc atg |     |     | 692  |
| Phe Gly Ser Trp Thr Tyr Asp Lys Ala Lys Ile Asp Leu Val Ser Met |     |     |      |
| 185   | 190 | 195 |      |
| cac agc cgt gtg gac caa ctg gac ttc tgg gaa agt ggg gag tgg gtc |     |     | 740  |
| His Ser Arg Val Asp Gln Leu Asp Phe Trp Glu Ser Gly Glu Trp Val |     |     |      |
| 200   | 205 | 210 |      |
| att gtg gat gcc gtg ggc acc tac aac acc agg aag tat gaa tgc tgt |     |     | 788  |
| Ile Val Asp Ala Val Gly Thr Tyr Asn Thr Arg Lys Tyr Glu Cys Cys |     |     |      |
| 215   | 220 | 225 |      |
| gcc gag atc tat cct gac atc acc tac gcc ttc atc atc cgc cga ctg |     |     | 836  |
| Ala Glu Ile Tyr Pro Asp Ile Thr Tyr Ala Phe Ile Ile Arg Arg Leu |     |     |      |
| 230   | 235 | 240 |      |
| cca ctg ttc tac acc atc aac ctt atc atc ccg tgc ctg ctc atc tcc |     |     | 884  |
| Pro Leu Phe Tyr Thr Ile Asn Leu Ile Ile Pro Cys Leu Leu Ile Ser |     |     |      |
| 245   | 250 | 255 | 260  |
| tgc ctc acc gtg ctg gtc ttc tat ctg ccc tcg gag tgc ggc gag aag |     |     | 932  |
| Cys Leu Thr Val Leu Val Phe Tyr Leu Pro Ser Glu Cys Gly Glu Lys |     |     |      |
| 265   | 270 | 275 |      |
| gtc acg ctg tgc atc tcg gtg ctg ctt tct ctc acc gtc ttc ctg ctg |     |     | 980  |
| Val Thr Leu Cys Ile Ser Val Leu Leu Ser Leu Thr Val Phe Leu Leu |     |     |      |
| 280   | 285 | 290 |      |
| ctc atc acc gag atc atc ccg tcc acc tcg ctg gtc atc ccg ctc atc |     |     | 1028 |
| Leu Ile Thr Glu Ile Ile Pro Ser Thr Ser Leu Val Ile Pro Leu Ile |     |     |      |
| 295   | 300 | 305 |      |

15/22

|   |      |
|---|------|
| ggc gag tac ctg ctc ttc acc atg atc ttc gtc acc ctc tcc att gtc<br>Gly Glu Tyr Leu Leu Phe Thr Met Ile Phe Val Thr Leu Ser Ile Val<br>310 315 320     | 1076 |
| atc acg gtc ttc gtg ctc aat gta cac cac cgc tca cca cgc aca cac<br>Ile Thr Val Phe Val Leu Asn Val His His Arg Ser Pro Arg Thr His<br>325 330 335 340 | 1124 |
| acc atg ccc gcc tgg gtg cgc aga gtc ttc ctg gac att gtg ccc cgt<br>Thr Met Pro Ala Trp Val Arg Arg Val Phe Leu Asp Ile Val Pro Arg<br>345 350 355     | 1172 |
| ctc ctc ttc atg aag cgc cca tct gtg gtc aaa gac aac tgc cgg aga<br>Leu Leu Phe Met Lys Arg Pro Ser Val Val Lys Asp Asn Cys Arg Arg<br>360 365 370     | 1220 |
| ctt atc gaa tcc atg cac aag atg gcc aac gcc cct cgt ttc tgg cca<br>Leu Ile Glu Ser Met His Lys Met Ala Asn Ala Pro Arg Phe Trp Pro<br>375 380 385     | 1268 |
| gag cct gag agt gag ccc ggc atc ttg ggt gac atc tgc aac caa ggc<br>Glu Pro Glu Ser Glu Pro Gly Ile Leu Gly Asp Ile Cys Asn Gln Gly<br>390 395 400     | 1316 |
| ctg tca cct gcc cca act ttc tgc aac cgc atg gac aca gca gtc gag<br>Leu Ser Pro Ala Pro Thr Phe Cys Asn Arg Met Asp Thr Ala Val Glu<br>405 410 415 420 | 1364 |
| acc cag cct aca tgc agg tca ccc tcc cac aag gtc cct gac ttg aag<br>Thr Gln Pro Thr Cys Arg Ser Pro Ser His Lys Val Pro Asp Leu Lys<br>425 430 435     | 1412 |
| aca tca gag gtt gag aag gcc agt ccc tgt cca tca cct ggc tct tgt<br>Thr Ser Glu Val Glu Lys Ala Ser Pro Cys Pro Ser Pro Gly Ser Cys<br>440 445 450     | 1460 |
| cac cca ccc aat agc agt ggg gcc cca gtg ctc atc aaa gcc agg tcc<br>His Pro Pro Asn Ser Ser Gly Ala Pro Val Leu Ile Lys Ala Arg Ser<br>455 460 465     | 1508 |
| ctg agc gtc cag cat gtg ccc agc tcc cag gaa gca gcc gag ggc agc<br>Leu Ser Val Gln His Val Pro Ser Ser Gln Glu Ala Ala Glu Gly Ser<br>470 475 480     | 1556 |

16/22

|  |      |
|--|------|
| atc cgc tgc cgg tct cgg agt atc cag tac tgt gtt tcc caa gat gga<br>Ile Arg Cys Arg Ser Arg Ser Ile Gln Tyr Cys Val Ser Gln Asp Gly<br>485                      490                      495                      500 | 1604 |
| gct gct tcc ctg act gag agc aag ccc act ggc tcc cca gcc tcc ctg<br>Ala Ala Ser Leu Thr Glu Ser Lys Pro Thr Gly Ser Pro Ala Ser Leu<br>505                      510                      515                          | 1652 |
| aag acc cgt cca tcc cag ctt cca gtg tca gac cag acc tct cca tgc<br>Lys Thr Arg Pro Ser Gln Leu Pro Val Ser Asp Gln Thr Ser Pro Cys<br>520                      525                      530                          | 1700 |
| aaa tgc aca tgc aag gaa cca tct cct gtg tcc ccc atc act gtg ctc<br>Lys Cys Thr Cys Lys Glu Pro Ser Pro Val Ser Pro Ile Thr Val Leu<br>535                      540                      545                          | 1748 |
| aag gct gga ggc acc aaa gca cct ccc caa cac ctg ccc ctg tca cca<br>Lys Ala Gly Gly Thr Lys Ala Pro Pro Gln His Leu Pro Leu Ser Pro<br>550                      555                      560                          | 1796 |
| gcc ctg aca cgg gca gta gaa ggc gtc cag tac att gca gac cac ctc<br>Ala Leu Thr Arg Ala Val Glu Gly Val Gln Tyr Ile Ala Asp His Leu<br>565                      570                      575                      580 | 1844 |
| aag gca gaa gac aca gac ttc tcg gtg aag gag gac tgg aaa tac gtg<br>Lys Ala Glu Asp Thr Asp Phe Ser Val Lys Glu Asp Trp Lys Tyr Val<br>585                      590                      595                          | 1892 |
| gcc atg gtc att gac cga atc ttc ctc tgg atg ttc atc att gtc tgc<br>Ala Met Val Ile Asp Arg Ile Phe Leu Trp Met Phe Ile Ile Val Cys<br>600                      605                      610                          | 1940 |
| ctt ctg ggc act gtg gga ctc ttc ctg cct cca tgg ttg gct ggt atg<br>Leu Leu Gly Thr Val Gly Leu Phe Leu Pro Pro Trp Leu Ala Gly Met<br>615                      620                      625                          | 1988 |
| atc tag ggaatagcgg cacctagctc ccaggtctct acagggccat gcgactcgtc<br>Ile  | 2044 |
| agtcacccac atcttccaaa ccggccatga gacacctagg agagagagat gctgccctgg  | 2104 |
| ttgaccctgg ttctagtcag gccacaggcc tggttggagc tagttgagga ctgatatagt  | 2164 |
| tacaggctga gtccctcatt aaagtttctc cagagcaagt gacagtcact ccctggccta  | 2224 |

cagacagcac acacccatct gtgtcacaga gaatgatcca gtgttgatct cagttgtcct 2284  
ttgaggccaa aacaaticat ccccttcag gaaccagagc ccctcgtgct gtgggattcc 2344  
tacggcccag gaaattccca tgggtctctg ctggccacac cctctccctc cccataatgt 2404  
ggttccctca accctccagg ctgggctgct ctctgactca aagggtgcag atgtaagccc 2464  
cggcagggtt ttattttgtt taggttgaag cgaattggta agaaatagag cagtgagata 2524  
tgttgatgag tcccaticac aggtgaatga gtgcagggtc tcacaggaag agtgaggcac 2584  
cacaggactc ctgcttccat ctccagggtca caggcatcaa tcatgagcat ttcctagggt 2644  
ccataaaccg gaggagggca agggcataga gggcttcagg gttgtgatgg agccaaatcc 2704  
tgtccagggc ctgggcccgt catcccctca tggatcttcc ttgatatccc tgtatgttcc 2764  
tgccctctctg gaattagaag actgaaagta agatttctca tcacggctct gtgggtgtggc 2824  
cacagttcac ctgagcacat ctctctagac cagtaggagt ggtgcgaagc cccttcaatg 2884  
ttgtagaata gcgtgagctg ccaagagact tctaagcaaa acaggctctg tgactcattt 2944  
ttcgagggcc atcgaccaag tcttaggggt gcctcacctt gtcgccttg cacttaggga 3004  
agacccgaga ggttctcttt ccccttccca agatggcacc aggcaacctt gagaaccac 3064  
cgtgggtggga tgggagaacg aacatgctgt gcacatctct atgagattcc actgagtga 3124  
gcccagaaca tgggaggcat gcaagaaatc accctgtgtc gtgggtcccag ttgaccctcc 3184  
gctgtctcca ccagccaggt gggtttcaca gagctgggcc ctgcaccctc agccaagctg 3244  
ttctaggccc tgaagctgag gtccctgttt ggatagtcct ggggactgca gaatgaaaga 3304  
agaacttaat gaacgcacca agcctccagt aggtacggct gccacctccg tggatgact 3364  
tgcccatccc agctgaatga ggatgtcagg aaggagggtat gccagagggc cagcattgcc 3424  
tttacctgac tacctacagg caaatccacc tttaaacaca gagctgctgg acatccaggg 3484  
tgctgggtgg aaaggaactc cacactggga gcccaggcc attcctatga acaggaaggg 3544

18/22

gatgcagagg cciggtctct gaactctgga tattgttcca ggtcttcct agagtcctaa 3604  
gggcatcgag gatcccatct gccatgtttc agtctgccct ccactgactg actagatctc 3664  
tagcccctat attggaactg tcgggatgct gcaagatgac cctggtgggg aaattcatgc 3724  
cagaatctgg gaccaagggg aacacaagcc ccagtgaiga agacagcagg taacacctga 3784  
cagatgtgtg ttctaccatt atggtgcata cgtggctcca accacaagaa atgcagacaa 3844  
cagtggagat cagggaagg ccattgtgac atggaacagg accgctgtgc tggctcttc 3904  
agggttagga aaactgaact gctgggatgc tcctgacagg ctaccacatt cccctaccc 3964  
cccaacacac attcacaagc cagaaaagga aaataaaaca ccgtgttctc cccattccca 4024  
ctcagccggc cttttgtctg cctgcttcca gtgttgatat gtgttcaaga taaagttcag 4084  
ttagggcaga atgcttgatt taagactttt gaaccagtga gctttaaaga acagagactg 4144  
tgtggcccca gcccctctga tacgtagaca ttatctcccc aaagctccca gtcctcccag 4204  
tctaccccat cccattagac agcatcaact caaatgtgag tcttggagac cagttcggct 4264  
agccatcata tgtctgggaa tcccatattg gactctgcaa tgtctggctt ctttcgcttg 4324  
tgtggccaag gctcatctgc ggtgttgtgt gtgatagact cattgctgtt gtgtgcttgt 4384  
tggatcttag ttgtttctgt ctgaataaac cgagtcgtgg tgtcttcccc caaaaaaaaa 4444  
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4504  
aaaa 4508

<210> 5  
<211> 629  
<212> PRT  
<213> Mus musculus

<400> 5

Met Glu Ile Gly Gly Ser Gly Ala Pro Pro Pro Leu Leu Leu Leu Pro  
1 5 10 15

19/22

Leu Leu Leu Leu Leu Gly Thr Gly Leu Leu Pro Ala Ser Ser His Ile  
20 25 30

Glu Thr Arg Ala His Ala Glu Glu Arg Leu Leu Lys Arg Leu Phe Ser  
35 40 45

Gly Tyr Asn Lys Trp Ser Arg Pro Val Ala Asn Ile Ser Asp Val Val  
50 55 60

Leu Val Arg Phe Gly Leu Ser Ile Ala Gln Leu Ile Asp Val Asp Glu  
65 70 75 80

Lys Asn Gln Met Met Thr Thr Asn Val Trp Val Lys Gln Glu Trp His  
85 90 95

Asp Tyr Lys Leu Arg Trp Asp Pro Gly Asp Tyr Glu Asn Val Thr Ser  
100 105 110

Ile Arg Ile Pro Ser Glu Leu Ile Trp Arg Pro Asp Ile Val Leu Tyr  
115 120 125

Asn Asn Ala Asp Gly Asp Phe Ala Val Thr His Leu Thr Lys Ala His  
130 135 140

Leu Phe Tyr Asp Gly Arg Val Gln Trp Thr Pro Pro Ala Ile Tyr Lys  
145 150 155 160

Ser Ser Cys Ser Ile Asp Val Thr Phe Phe Pro Phe Asp Gln Gln Asn  
165 170 175

Cys Thr Met Lys Phe Gly Ser Trp Thr Tyr Asp Lys Ala Lys Ile Asp  
180 185 190

20/22

Leu Val Ser Met His Ser Arg Val Asp Gln Leu Asp Phe Trp Glu Ser  
195 200 205

Gly Glu Trp Val Ile Val Asp Ala Val Gly Thr Tyr Asn Thr Arg Lys  
210 215 220

Tyr Glu Cys Cys Ala Glu Ile Tyr Pro Asp Ile Thr Tyr Ala Phe Ile  
225 230 235 240

Ile Arg Arg Leu Pro Leu Phe Tyr Thr Ile Asn Leu Ile Ile Pro Cys  
245 250 255

Leu Leu Ile Ser Cys Leu Thr Val Leu Val Phe Tyr Leu Pro Ser Glu  
260 265 270

Cys Gly Glu Lys Val Thr Leu Cys Ile Ser Val Leu Leu Ser Leu Thr  
275 280 285

Val Phe Leu Leu Leu Ile Thr Glu Ile Ile Pro Ser Thr Ser Leu Val  
290 295 300

Ile Pro Leu Ile Gly Glu Tyr Leu Leu Phe Thr Met Ile Phe Val Thr  
305 310 315 320

Leu Ser Ile Val Ile Thr Val Phe Val Leu Asn Val His His Arg Ser  
325 330 335

Pro Arg Thr His Thr Met Pro Ala Trp Val Arg Arg Val Phe Leu Asp  
340 345 350

Ile Val Pro Arg Leu Leu Phe Met Lys Arg Pro Ser Val Val Lys Asp  
355 360 365

Asn Cys Arg Arg Leu Ile Glu Ser Met His Lys Met Ala Asn Ala Pro

21/22

|   |     |     |     |
|---|-----|-----|-----|
| 370   | 375 | 380 |     |
| Arg Phe Trp Pro Glu Pro Glu Ser Glu Pro Gly Ile Leu Gly Asp Ile |     |     |     |
| 385   | 390 | 395 | 400 |
| Cys Asn Gln Gly Leu Ser Pro Ala Pro Thr Phe Cys Asn Arg Met Asp |     |     |     |
|   | 405 | 410 | 415 |
| Thr Ala Val Glu Thr Gln Pro Thr Cys Arg Ser Pro Ser His Lys Val |     |     |     |
|   | 420 | 425 | 430 |
| Pro Asp Leu Lys Thr Ser Glu Val Glu Lys Ala Ser Pro Cys Pro Ser |     |     |     |
|   | 435 | 440 | 445 |
| Pro Gly Ser Cys His Pro Pro Asn Ser Ser Gly Ala Pro Val Leu Ile |     |     |     |
|   | 450 | 455 | 460 |
| Lys Ala Arg Ser Leu Ser Val Gln His Val Pro Ser Ser Gln Glu Ala |     |     |     |
|   | 465 | 470 | 475 |
| Ala Glu Gly Ser Ile Arg Cys Arg Ser Arg Ser Ile Gln Tyr Cys Val |     |     |     |
|   | 485 | 490 | 495 |
| Ser Gln Asp Gly Ala Ala Ser Leu Thr Glu Ser Lys Pro Thr Gly Ser |     |     |     |
|   | 500 | 505 | 510 |
| Pro Ala Ser Leu Lys Thr Arg Pro Ser Gln Leu Pro Val Ser Asp Gln |     |     |     |
|   | 515 | 520 | 525 |
| Thr Ser Pro Cys Lys Cys Thr Cys Lys Glu Pro Ser Pro Val Ser Pro |     |     |     |
|   | 530 | 535 | 540 |
| Ile Thr Val Leu Lys Ala Gly Gly Thr Lys Ala Pro Pro Gln His Leu |     |     |     |
|   | 545 | 550 | 555 |
|   |     |     | 560 |



22/22

Pro Leu Ser Pro Ala Leu Thr Arg Ala Val Glu Gly Val Gln Tyr Ile  
565 570 575

Ala Asp His Leu Lys Ala Glu Asp Thr Asp Phe Ser Val Lys Glu Asp  
580 585 590

Trp Lys Tyr Val Ala Met Val Ile Asp Arg Ile Phe Leu Trp Met Phe  
595 600 605

Ile Ile Val Cys Leu Leu Gly Thr Val Gly Leu Phe Leu Pro Pro Trp  
610 615 620

Leu Ala Gly Met Ile  
625

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/003430

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
Int.Cl.<sup>7</sup> A01K67/027, C12N15/09

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.<sup>7</sup> A61K67/00-67/04, C12N15/00-15/90

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2005  
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2005 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2005

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JICST FILE(JOIS), BIOSIS/MEDLINE/WPIDS(STN), GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq,  
SwissProt/PIR/GeneSeq

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages   | Relevant to claim No. |
|-----------|--|-----------------------|
| X         | SAITO, R. et al., "Characteristics of transgenic rats harboring a mutation underlying human autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy (ADNFLE).", J.Pharmacol.Sci., 23 February, 2004 (23.02.04), Vol.94, Suppl.I, 102P | 1-3                   |
| Y         | HIROSE, S. et al., "A novel mutation of CHRNA4 responsible for autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy.", Neurology, Vol.53, No.8, 10 November, 1999 (10.11.99), pages 1749 to 1753                                   | 1-3                   |

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
06 May, 2005 (06.05.05)

Date of mailing of the international search report  
24 May, 2005 (24.05.05)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/003430

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages  | Relevant to claim No. |
|-----------|---|-----------------------|
| Y         | ROZYCKA A. et al., "Evidence for S284L mutation of the CHRNA4 in a white family with autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy.", Epilepsia, (August 2003), Vol.44, No.8, pages 1113 to 1117   | 1-3                   |
| Y         | MATSUSHIMA, N. et al., "Mutation (Ser284Leu) of neuronal nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 4$ subunit associated with frontal lobe epilepsy causes faster desensitization of the rat receptor expressed in oocytes.", Epilepsy Res. 2002, Vol.48, pages 181 to 186                 | 1-3                   |
| Y         | TRIBOLLET E. et al., "Role of neuronal nicotinic receptors in the transmission and processing of information in neurons of the central nervous system.", Pharmacol. Biochem.Behav. 2001, Vol.70, pages 457 to 466, page 458, lower right column, line 5 to page 459, left column, line 11 | 1-3                   |

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.<sup>7</sup> A01K67/027, C12N15/09

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.<sup>7</sup> A61K67/00 - 67/04, C12N15/00 - 15/09

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

|             |            |
|-------------|------------|
| 日本国実用新案公報   | 1922-1996年 |
| 日本国公開実用新案公報 | 1971-2005年 |
| 日本国実用新案登録公報 | 1996-2005年 |
| 日本国登録実用新案公報 | 1994-2005年 |

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

JICST ファイル (JOIS)  
 BIOSIS/MEDLINE/WPIDS (STN)  
 GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq, SwissProt/PIR/GeneSeq

## C. 関連すると認められる文献

| 引用文献の<br>カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示   | 関連する<br>請求の範囲の番号 |
|-----------------|---|------------------|
| X               | SAITO R et al., "Characteristics of transgenic rats harboring a mutation underlying human autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy (ADNFLE)." J. Pharmacol. Sci., 23. 02. 2004, Vol. 94, Suppl. I, 102P | 1-3              |
| Y               | HIROSE S et al., "A novel mutation of CHRNA4 responsible for autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy." Neurology, Vol. 53, No. 8, 10. 11. 1999, p. 1749-1753   | 1-3              |

☒ C欄の続きにも文献が列举されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
 「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

06. 05. 2005

国際調査報告の発送日

24. 5. 2005

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

斎藤 真由美

4 B

3541

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

| C (続き) . 関連すると認められる文献 |  |                  |
|-----------------------|--|------------------|
| 引用文献の<br>カテゴリー*       | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示  | 関連する<br>請求の範囲の番号 |
| Y                     | ROZYCKA A et al., "Evidence for S284L mutation of the CHRNA4 in a white family with autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy." <i>Epilepsia</i> , (August 2003), Vol. 44, No. 8, p. 1113-1117  | 1 - 3            |
| Y                     | MATSUSHIMA N et al., "Mutation (Ser284Leu) of neuronal nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 4$ subunit associated with frontal lobe epilepsy causes faster desensitization of the rat receptor expressed in oocytes." <i>Epilepsy Res.</i> 2002, Vol. 48, p. 181-186 | 1 - 3            |
| Y                     | TRIBOLLET E et al., "Role of neuronal nicotinic receptors in the transmission and processing of information in neurons of the central nervous system." <i>Pharmacol. Biochem. Behav.</i> 2001, Vol. 70, p. 457-466, p.458 右欄下 5 行—p.459 左欄 1 1 行                         | 1 - 3            |